



Attorney's Dock... 08415-003001 / 0470-5039-US

1651 #2
RECEIVED
10/21/00

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

Applicant : Wen-Teng Wu et al.

Serial No. : 09/611,992

Filed : July 7, 2000

Title : METHOD FOR CULTIVATION OF FILAMENTOUS FUNGI

Art Unit : Unknown

Examiner : Unknown

Commissioner for Patents
Washington, D.C. 20231

RECEIVED

OCT 25 2000

TECH CENTER 1600/2000

TRANSMITTAL OF PRIORITY DOCUMENT UNDER 35 USC § 119

Applicants hereby confirm their claim of priority under 35 USC § 119 from Taiwan
Application No. 89103793 filed March 3, 2000. A certified copy of the application from which
priority is claimed is submitted herewith.

Please apply any charges or credits to Deposit Account No. 06-1050.

Respectfully submitted,

Date: 10-16-00

Y. Rocky Tsao

Y. Rocky Tsao
Reg. No. 34,053

Fish & Richardson P.C.
225 Franklin Street
Boston, MA 02110-2804
Telephone: (617) 542-5070
Facsimile: (617) 542-8906

20132422.doc

BEST AVAILABLE COPY

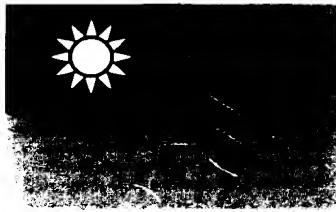
CERTIFICATE OF MAILING BY FIRST CLASS MAIL

I hereby certify under 37 CFR §1.8(a) that this correspondence is being
deposited with the United States Postal Service as first class mail with
sufficient postage on the date indicated below and is addressed to the
Commissioner for Patents, Washington, D.C. 20231.

October 16, 2000
Date of Deposit

Diane M. Saturno
Signature

Diane M. Saturno
Typed or Printed Name of Person Signing Certificate



中華民國經濟部智慧財產局

INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE
MINISTRY OF ECONOMIC AFFAIRS
REPUBLIC OF CHINA

茲證明所附文件，係本局存檔中原申請案的副本，正確無訛，
其申請資料如下：

This is to certify that annexed is a true copy from the records of this
office of the application as originally filed which is identified hereunder:

申 請 日：西元 2000 年 03 月 03 日
Application Date

申 請 案 號：089103793
Application No.

申 請 人：食品工業發展研究所
Applicant(s)

局 長
Director General

陳 明 邦

發文日期：西元 2000 年 7 月 7 日
Issue Date

發文字號：
Serial No. 08911009001

申請日期：	案號：
類別：	

(以上各欄由本局填註)

發明專利說明書

一、 發明名稱	中 文	利用固態營養基質懸浮液培養絲狀真菌的方法
	英 文	
二、 發明人	姓 名 (中文)	1. 吳文騰 2. 王培銘 3. 黃定國 4. 袁國芳
	姓 名 (英文)	1. 2. 3. 4.
	國 籍	1. 中華民國 2. 中華民國 3. 中華民國 4. 中華民國
	住、居所	1. 新竹市東區光明里7鄰光復路二段清華大學東院83號二樓 2. 高雄市新興區成功里5鄰忠孝一路340巷21號 3. 台北縣中和市民享里8鄰民治街132巷11號 4. 新竹市明湖路400巷45弄11號
三、 申請人	姓 名 (名稱) (中文)	1. 食品工業發展研究所
	姓 名 (名稱) (英文)	1.
	國 籍	1. 中華民國
	住、居所 (事務所)	1. 新竹市食品路331號
	代表人 姓 名 (中文)	1. 劉廷英
	代表人 姓 名 (英文)	1.



四、中文發明摘要 (發明之名稱：利用固態營養基質懸浮液培養絲狀真菌的方法)

本發明揭露一種培養絲狀真菌的方法，包括(a) 製備一含有固態的營養基質之培養液；以及(b) 將該絲狀真菌之種菌接種至含有固態的營養基質之培養液的醱酵槽中進行培養。此方法結合了傳統固態醱酵與液態培養之特點，並可使用具網狀導流管之氣舉式醱酵槽進行生產。此外，本發明亦可採用饋料批次(fed-batch)的方式，以進一步提高絲狀真菌及其代謝物之產量。

英文發明摘要 (發明之名稱：)



本案已向

國(地區)申請專利

申請日期

案號

主張優先權

無

有關微生物已寄存於

寄存日期

寄存號碼

無

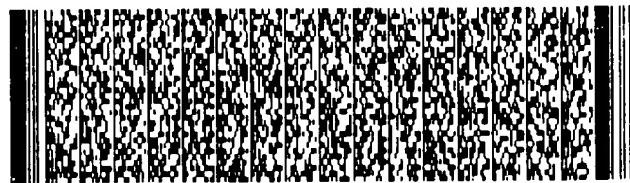
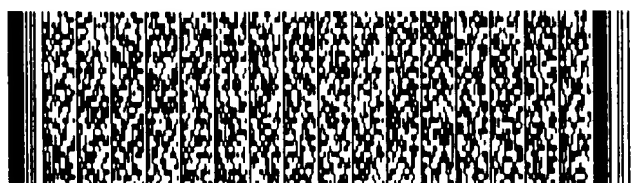
五、發明說明 (1)

本發明係有關於絲狀真菌之培養方法，特別是有關於利用固態的營養基質懸浮液以培養絲狀真菌的方法。

發明背景

一般而言，絲狀真菌之醱酵方法，有固態培養 (solid-state culture) 與液態培養 (submerged culture) 兩種方式。在傳統上，大多採用固態培養方式進行生產，以利用紅麴菌醱酵來生產紅麴代謝物為例，培養時直接將紅麴菌接種於固態營養基質上 (例如，米、麥等穀類) 進行醱酵；在醱酵過程中，紅麴菌之菌絲會滲入基質表層內生長，而所代謝出的色素亦會被基質吸收，使基質由外而內逐漸轉成紫紅色。此外，紅麴菌亦會滲入至穀物顆粒內生長，這些現象都有利於色素之代謝產出。1991年，Johns和Stuar利用以人工培養基合成之鹿角膠 (Carrageenan) 顆粒來模擬穀粒形態培養紅麴菌 [Johns and Stuar, (1991) J. Industrial Microbiology, 8:23-28]，但由於其營養成份與結構等因素，人工培養基並不適合用於紅麴色素之固態醱酵生產上。一般而言，為充份利用基質並維持適當的溫濕度，傳統固態醱酵之處理與操作流程均十分繁複及耗時費工，加上氧氣傳送的限制、雜菌污染及各相關醱酵參數控制不易等問題，造成其生產規模放大上相當大的困難。

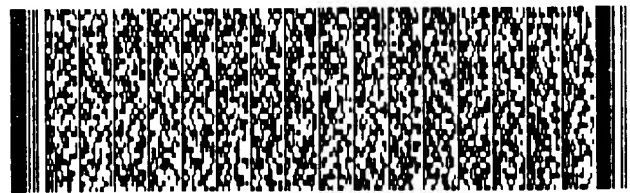
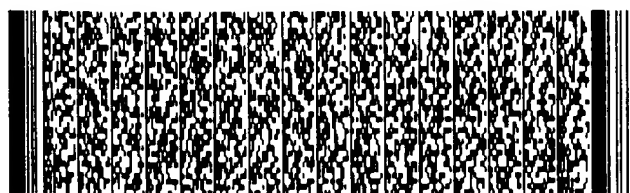
此外，由於固態培養很難藉由醱酵條件的控制來調控菌體的生長與代謝，因此常致使產物的品質與產量不穩



五、發明說明 (2)

定，為尋求解決之道，許多研究是以液態培養的方式進行發酵生產。1982年，Lin and Lizuka嘗試利用醣類或穀物粉末為碳源進行紅麴菌液態發酵 [Lin and Lizuka, (1982) Appl. Environ. Microbiology, 43:671-676]，以解決紅麴色素在生產規模放大與操作控制上的問題，但色素產量有明顯偏低的現象。1984年，Evans和Wang利用藻膠（一種惰性物質，本身不含養分）將紅麴菌固定化後進行液態培養，結果發現，紅麴菌絲攀附生長現象有助於色素的代謝 [Evans and Wang, (1984) Applied and Environmental Microbiology 47(6):1323-1326]。1990年，Mak等人為了提供菌絲攀附生長的環境，利用滾瓶式培養法 (Roller Bottle Culture) 具有高氧氣質傳與低流體剪力等特性，以葡萄糖為碳源進行紅麴菌培養 [Mak等人, (1990) Enzyme Microbiol. Technol., 12:965-968]，但其缺點為生產規模太小。1995年，Lee等人則是利用40%的樹薯澱粉 (tapioca starch) 為碳源，以攪拌槽進行固液態培養 (solid-liquid state culture)，結果獲得相當高的色素產量 [Lee等人, (1995) J. Fermentation of Bioengineering, 79(5): 516-518]，但由於操作上的限制（樹薯澱粉易沈積於底部，造成通氣及攪拌混合困難等問題），此方法亦僅限於小規模之生產程序。

上述以發酵液為營養基質，對絲狀真菌進行液態發酵（例如，藻膠、樹薯澱粉），但發酵產率不佳。



五、發明說明 (3)

因此，本發明之主要目的即在於改善上述絲狀真菌醱酵產率不佳之情形。

此外，要如何在菌體攀附生長的特性下進行液態醱酵培養，並且要避免醱酵槽之過大的流體剪力破壞菌體（菌絲）及其所攀附的基質，以改善絲狀真菌的生產製程並使生產規模放大，則為本發明之另一目的。

發明概述

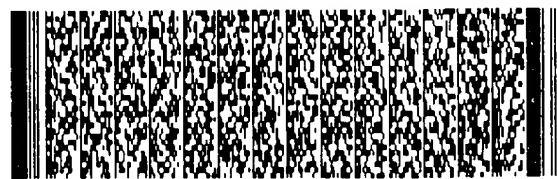
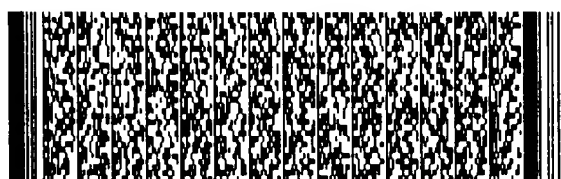
有鑑於此，本發明提供一種利用固態的營養基質懸浮液培養絲狀真菌（例如，紅麴菌）的方法，包括下列步驟：(a) 製備一含有固態的營養基質之培養液；以及(b) 將該絲狀真菌之種菌接種至含有固態的營養基質之培養液的醱酵槽中進行培養。

根據本發明之方法，在步驟(a)之後，更包括接種該絲狀真菌以得到一種菌的步驟。

根據本發明之方法，其中醱酵槽是以通氣為攪拌混合動力之氣動式醱酵槽，較佳地是具有網狀導流管之氣舉式醱酵槽。

本發明所提供之培養絲狀真菌的方法，更包括以饋料批式的方式培養絲狀真菌，其中，饋料培養基包括上述之固態營養基質以及氣源。

為了讓本發明之上述和其他目的、特徵，及優點能更明顯易懂，下文特舉較佳實施例並配合所附圖示，做詳細說明如下：



五、發明說明 (4)

圖示之簡單說明

第1圖顯示在利用不同形態之營養基質進行液態醱酵時，紅麴菌生長及紅麴色素產量之比較圖。

第2圖顯示種菌菌齡對紅麴菌生長及紅麴色素產量之影響。

第3圖顯示以空氣*水為流力系統時，氣動式醱酵槽之流力性質比較圖，其中，初始液體高度為120公分，溫度為30℃。

第4圖顯示以2%米粒*空氣*水為流力系統時，氣動式醱酵槽之三相流力性質比較圖，其中，初始液體高度為120公分，溫度為30℃。

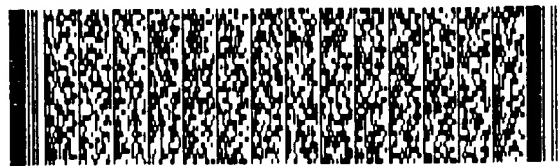
第5圖顯示以三種氣動式醱酵槽培養紅麴菌之紅麴色素產量比較圖。

第6圖顯示以具網狀導流管之氣舉式醱酵槽進行饋料批次方式培養紅麴菌生產紅麴色素之產量圖。

發明之詳細說明

根據本發明，適合以本發明之方法培養的絲狀真菌並不限於紅麴菌屬，其他如青黴菌屬 (*Penicillium*) 及麴菌屬 (*Aspergillus*) 等絲狀真菌亦具有應用之潛力。

名詞"固態的營養基質"意指能在培養液中保持固體形態以提供菌體生長攀附的場所，且又能提供絲狀真菌生長代謝所需碳源的基質，例如碳水化合物，適合的碳水化合物例如，但並不限於，米、麥等穀類，而在使用之前，可



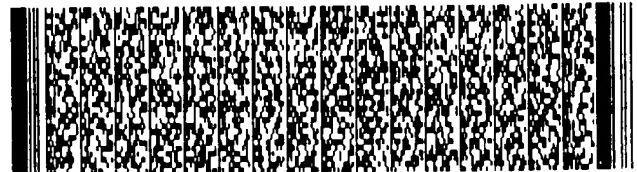
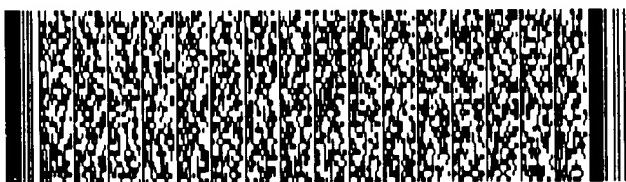
五、發明說明 (5)

先將其以去殼及蒸煮滅菌的步驟處理。由於穀粒（例如，米、麥等穀類）本身的結構十分適合菌絲攀附，又可做為絲狀真菌的主要養份來源，因此本發明是採用含有懸浮的固態營養基質來培養絲狀真菌，例如利用含米粒之培養液以進行紅麴菌培養，如此便能同時具有菌絲攀附生長與懸浮流動等特性。

根據本發明之方法，其中步驟(a)之培養液更包括氮源、無機鹽及微量元素等成份。

根據本發明之方法，在步驟(a)之後，更包括接種該絲狀真菌以得到一種菌的步驟，此步驟包括：(1)將該菌種自保存用之平面培養基上重新轉殖至一新的平面培養基，並在恒溫培養箱中培養5-7天；(2)以無菌水沖洗下平面培養基上的孢子與菌絲；(3)將該孢子/菌絲懸浮液接入含有該固態的營養基質懸浮液之液態培養基中進行搖瓶培養；以及(4)將培養36-48小時之該種菌接種至醱酵槽。

一般常用的醱酵槽依照其混合的驅動方式不同可以分為氣動式醱酵槽與攪拌式醱酵槽，"氣動式醱酵槽"是指利用通氣的方式將氣體與醱酵液混合者，"攪拌式醱酵槽"則是利用攪拌翼以攪拌的方式將氣體與醱酵液混合，其中，在氣動式醱酵槽內裝置一實壁導流管者稱為"氣舉式醱酵槽"，而若裝置一網狀導流管者則稱為"具網狀導流管之氣舉式醱酵槽"（其裝置之實例如後所述）。在醱酵槽的選擇上，由於絲狀真菌的菌絲以及固態的營養基質形態之完整性，易受到過大的流體剪力而破壞，因此，本發明選擇



五、發明說明 (6)

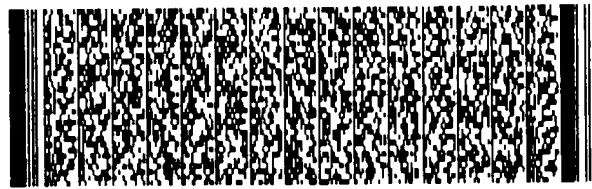
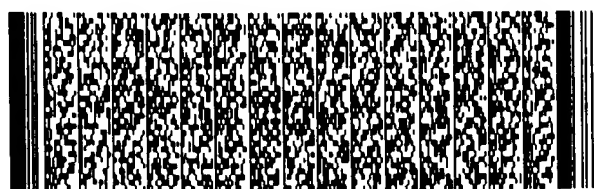
以氣動式發酵槽來培養紅麴菌，其中，較佳地是具有網狀導流管之氣舉式發酵槽。

根據本發明之方法，更包括以饋料批式方式培養絲狀真菌，其中此饋料培養基包括固態營養基質以及氮源。

實施例1：不同型態之營養基質對紅麴色素產量之影響

使用紅麴菌菌種M15 (CCRC 寄存編號：31615，台灣，新竹) 進行不同型態之營養基質對紅麴色素產量之影響。以培養基A (包含2%的在菜米粉或米粒、1.26%麴胺酸 (MSG)、0.24% KH_2PO_4 、0.24% K_2HPO_4 、0.8% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、0.05% KCl 、0.001% $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、0.001% $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 及 0.0003% $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) 進行液態培養，其中碳源為2%的米粉或米粒。

進行紅麴菌之搖瓶培養前，先將菌種自保存用之平面培養基上重新轉殖至一新的平面培養基，菌種保存用之平面培養基為39克/公升的馬鈴薯-葡萄糖之洋菜膠 (Potato Dextrose Agar; PDA)。再置於30℃下之恆溫培養箱中培養6天，取出後使用6毫升的無菌水沖洗平面培養基上的孢子與菌絲，取3毫升之孢子/菌絲懸浮液接入裝有300毫升液態培養基之1公升有溝槽的三角培養瓶中，進行30℃、200轉/分鐘 (rpm) 之振盪培養，即可作為搖瓶培養實驗及後續擴大培養所需之種菌。此時將30毫升之種菌培養液再接入裝有270毫升液態培養基之1公升三角培養瓶中，以30℃、200 rpm的條件進行振盪培養，並依所選定的時間



五、發明說明 (7)

測量紅麴菌生長及紅麴色素的產量，其結果如第1圖所示。

結果：

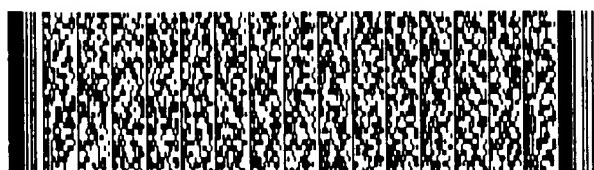
由第1圖之 OD_{500} 所測得之結果顯示，使用米粒懸浮液培養紅麴菌之色素產量為使用米粉的兩倍，其原因在於米粒本身特殊的構造可供菌體攀附生長以維持菌絲型態，有利於產出色素。因此，此種含有穀物顆粒之液態培養法可應用於其他絲狀真菌之培養系統中，以改善醱酵製程。

實施例2：種菌菌齡對紅麴色素產量之影響

以2%米粒為碳源（培養基之其他成份如上述），搖瓶培養紅麴菌，以探討種菌菌齡對紅麴色素產量的影響，將菌齡24、36、48、60、72及84小時之種菌，分別接入1公升的三角培養瓶中進行振盪培養，實驗結果如第2圖所示。其中以種菌菌齡為36與48小時這兩組之紅麴色素產量較高（50小時的培養， OD_{500} 即可達12單位以上），至於其他組的實驗結果並不理想。

實施例3：氣動式醱酵槽流力性質之試驗

選擇3種氣動式醱酵槽（槽徑13公分，高度200公分，透明壓克力材質）以比較其流力性質，分別是氣泡塔式醱酵槽（槽內不加裝任何套管或物件）、氣舉式醱酵槽（槽內加裝一內徑8.5公分之實壁圓管，高度1公尺）以及具網



五、發明說明 (8)

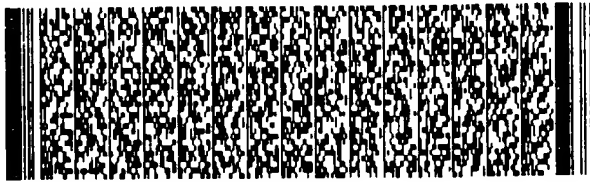
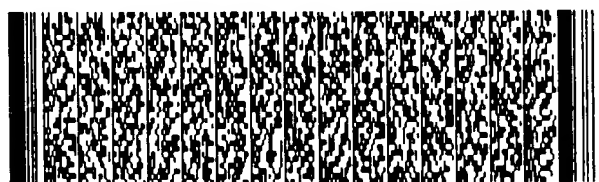
狀導流管之氣舉式醱酵槽 (槽內加裝內徑6公分與8.5公分的同軸雙網狀導流管，高度1公尺，內/外網管的網目數為3/3)。選擇的流力系統分別為空氣*水之二相系統以及2%米粒*水*空氣之三相系統。

評估反應器的性能參數則有：(1) 氣體佔有率 (gas holdup, ϵ)：以體積膨脹法 (Volume Expansion Method) 測量；(2) 氧氣質傳係數 (oxygen mass transfer coefficient, kLa)：採用動態法 (Dynamic Method) 測量；以及(3) 液相混合時間 (liquid mixing time)：則是採用熱量響應法測量。實驗結果如第3圖及第4圖所示。

結果：

無論是在那一種流力系統下，氣泡塔式反應器的流力特性都會比具網狀導流管之氣舉式反應器來得差 (參見第3圖及第4圖)。一般而言，氣泡塔式醱酵槽中若液態醱酵液含有固態基質時，其氣體佔有率、氧氣傳送速率和液相混合時間都會下降，嚴重影響醱酵槽之整體效能。

雖然在添加米粒顆粒後，不論是氣泡塔式醱酵槽或是具網狀導流管之氣舉式醱酵槽，其氣體佔有率、氧氣傳送速率與液相混合時間都有下降的現象，但如實驗結果所示 (第4圖)，具網狀導流管之氣舉式醱酵槽的流力性能仍是明顯優於氣泡塔式醱酵槽。因此，就具有低剪應力特性的氣動式醱酵槽而言，雙網管氣舉式醱酵槽是較適合應用於此類好氣性微生物醱酵系統上的。



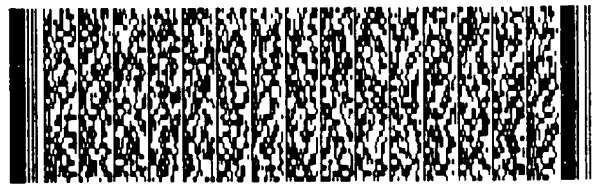
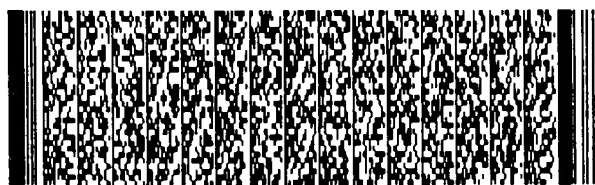
五、發明說明 (9)

實施例4：氣動式醱酵槽之培養實驗

以上述3種氣動式醱酵槽，使用含有2%米粒之培養液進行紅麴色素的醱酵生產，以比較氣泡塔式、氣舉式及具網狀導流管氣舉式三種型式醱酵槽的產量。培養時的操作體積為15公升，種菌接菌量為8.5%，培養溫度為30℃，通氣量為2 VVM（相當於氣體表面流速為3.768公分/秒），而接入之種菌菌齡為48小時。色素之產量是以光學測定法評估，~~如前所述~~，包括500、475以及400 nm之波長，以測量紅、橙以及黃色色素的濃度。批式（batch）培養的色素產量實驗結果如第5圖所示。

結果：

三種醱酵槽中以具網狀導流管之氣舉式醱酵槽的紅麴色素產量最高，在培養60小時後之 OD_{500} 值可達到18單位，此結果亦優於搖瓶振盪培養（參見第1圖）。其中，可觀察到氣泡塔式與氣舉式醱酵槽之紅麴色素產量，並未比搖瓶振盪培養之紅麴色素產量高，一方面是由於搖瓶培養的規模小（約300毫升，相對於醱酵槽內培養液的體積15公升），容易藉由震盪而將氣體、液體混合均勻；另一方面則顯示，氣泡塔式與氣舉式醱酵槽在規模放大後，也會有不易混合均勻的現象。由此更顯示本發明之具網狀導流管的氣舉式醱酵槽，對於米粒*水*空氣之三相系統混合均勻的優點，並且適合用於培養絲狀真菌。



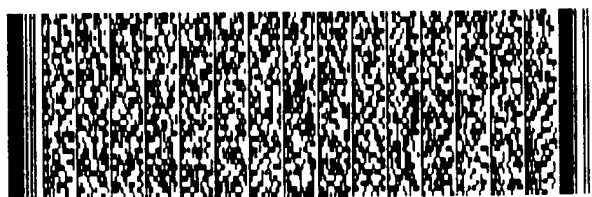
五、發明說明 (10)

實施例5：以具網狀導流管之氣舉式醱酵槽進行紅麴菌饋料批次培養

米粒在醱酵的過程中，受到菌絲滲入分解利用與流體剪力作用的影響，會逐漸鬆散、破裂，使得醱酵液中之米粒含量減少，因此，為維持醱酵型態以進一步增加紅麴代謝物的產量，可利用分批添加米粒的方式以補充醱酵液中之米粒含量。此處以具網狀導流管之氣舉式醱酵槽進行紅麴菌之饋料批次培養 (fed batch)，其醱酵條件如同批式培養實驗 (參見實施例5)，所使用的饋料培養基亦為2%米粒與1.26%麩胺酸 (MSG)，總培養時數約200小時，分別在35小時及100小時添加饋料。結果如第6圖所示，最終紅色色素之產量 OD_{500} 值可達36單位，為批式生產之兩倍。

由以上實施例可知，本發明改善了液態醱酵中代謝物，如紅麴色素，產量偏低的問題，亦結合了傳統固態醱酵 (solid state fermentation) 與液態培養

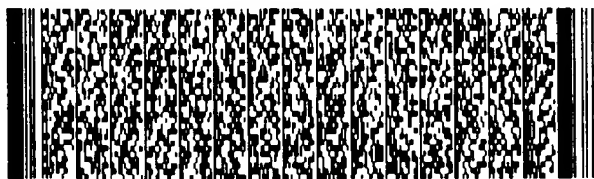
(submerged fermentation) 之特點，除了保有菌絲攀附生長特性外亦具有懸浮流動之性質，故可以解決傳統固態醱酵在規模放大與操作上的困難。在醱酵程序上，本發明使用具網狀導流管之氣舉式醱酵槽進行生產，除了可以提供菌體生長所需之溶氧外，且可以避免剪力過大而傷害菌體及破壞米粒結構，解決機械式攪拌槽在醱酵程序上的限制。此外，為了維持懸浮米粒之醱酵型態，本發明亦採用



五、發明說明 (11)

饋料批次方式來補充醱酵過程中消耗掉的米粒與養份，以進一步提高紅麴代謝物之產量。

雖然本發明已以較佳具體實施例揭露如上，然其僅為舉例說明，並非用以限定本發明，任何熟習此技藝者，在不脫離本發明之精神和範圍內，所作之各種更動與潤飾均是在本發明之範疇之內，例如，以本發明之具網狀導流管氣舉式醱酵槽來培養其他菌類（例如，好氣性細菌、真菌等），均是在本發明之範疇之內，因此，本發明之專利保護範圍當視後附之申請專利範圍所界定者為準。



六、申請專利範圍

1. 一種利用固態的營養基質懸浮液培養絲狀真菌的方法，包括下列步驟：

(a) 製備一含有固態的營養基質之培養液；以及

(b) 將該絲狀真菌之種菌接種至含有該固態的營養基質之培養液的發酵槽中進行培養。

2. 如申請專利範圍第1項所述之方法，其中該絲狀真菌包括紅麴菌屬 (*Monascus*)、青黴菌屬 (*Penicillium*) 及麴菌屬 (*Aspergillus*) 等。

3. 如申請專利範圍第1項所述之方法，其中該固態營養基質為碳水化合物。

4. 如申請專利範圍第3項所述之方法，其中該碳水化合物為穀類。

5. 如申請專利範圍第4項所述之方法，更包括在使用前，將該穀類去殼及蒸煮滅菌的步驟。

6. 如申請專利範圍第1項所述之方法，其中步驟(a)之培養液更包括氮源、無機鹽及微量元素。

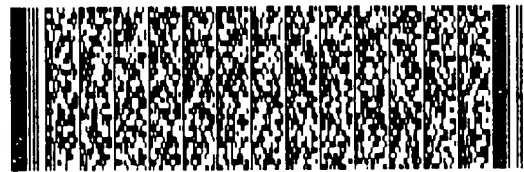
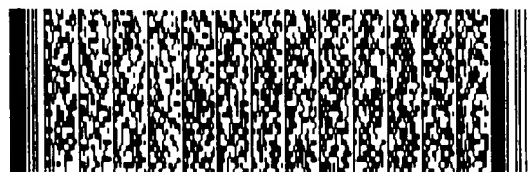
7. 如申請專利範圍第1項所述之方法，在步驟(a)之後，更包括接種該絲狀真菌以得到一種菌的步驟。

8. 如申請專利範圍第7項所述之方法，其中接種該絲狀真菌的方法包括：

(1) 將該菌種自保存用之平面培養基上重新轉殖至一新的平面培養基，並在恆溫培養箱中培養5-7天；

(2) 以無菌水沖洗下平面培養基上的孢子與菌絲；

(3) 將該孢子/菌絲懸浮液接入含有該固態的營養基質



六、申請專利範圍

懸浮液之液態培養基中進行搖瓶培養；以及

(4) 將培養36-48小時之該種菌接種至醱酵槽。

9. 如申請專利範圍第1項所述之方法，其中該醱酵槽是以通氣為攪拌混合動力之氣動式醱酵槽。

10. 如申請專利範圍第9項所述之方法，其中該氣動式醱酵槽為具有網狀導流管之氣舉式醱酵槽。

11. 如申請專利範圍第1項所述之方法，更包括以饋料批式方式培養絲狀真菌。

12. 如申請專利範圍第11項所述之方法，其中該饋料培養基包括如申請專利範圍第3項所述之固態營養基質以及氮源。

13. 一種利用穀類懸浮液培養紅麴菌或生產其代謝物的方法，包括下列步驟：

(a) 製備一含有穀類之培養液；以及

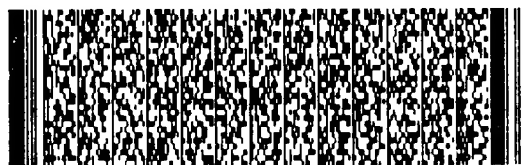
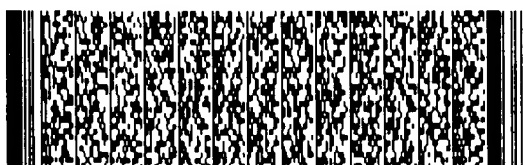
(b) 將該紅麴菌之種菌接種至含有穀類培養液之醱酵槽中進行醱酵。

14. 如申請專利範圍第13項所述之方法，更包括在使用前，將該穀類去殼及蒸煮滅菌的步驟。

15. 如申請專利範圍第13項所述之方法，在步驟(a)之後，更包括接種該絲狀真菌以得到一種菌的步驟。

16. 如申請專利範圍第15項所述之方法，其中接種該紅麴菌的方法包括：

(1) 將該紅麴菌菌種自保存用之平面培養基上重新轉殖至一新的平面培養基，並在恒溫培養箱中培養5-7天；



六、申請專利範圍

(2) 以無菌水沖洗下平面培養基上的孢子與菌絲；

(3) 將該孢子/菌絲懸浮液接入含有該穀類之液態培養基中進行搖瓶培養；以及

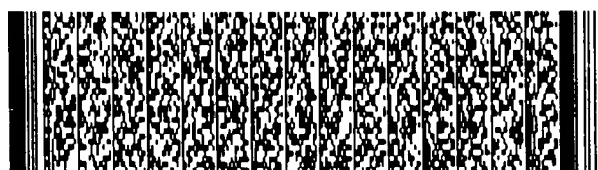
(4) 將培養36-48小時之該紅麴菌的種菌接種至醱酵槽。

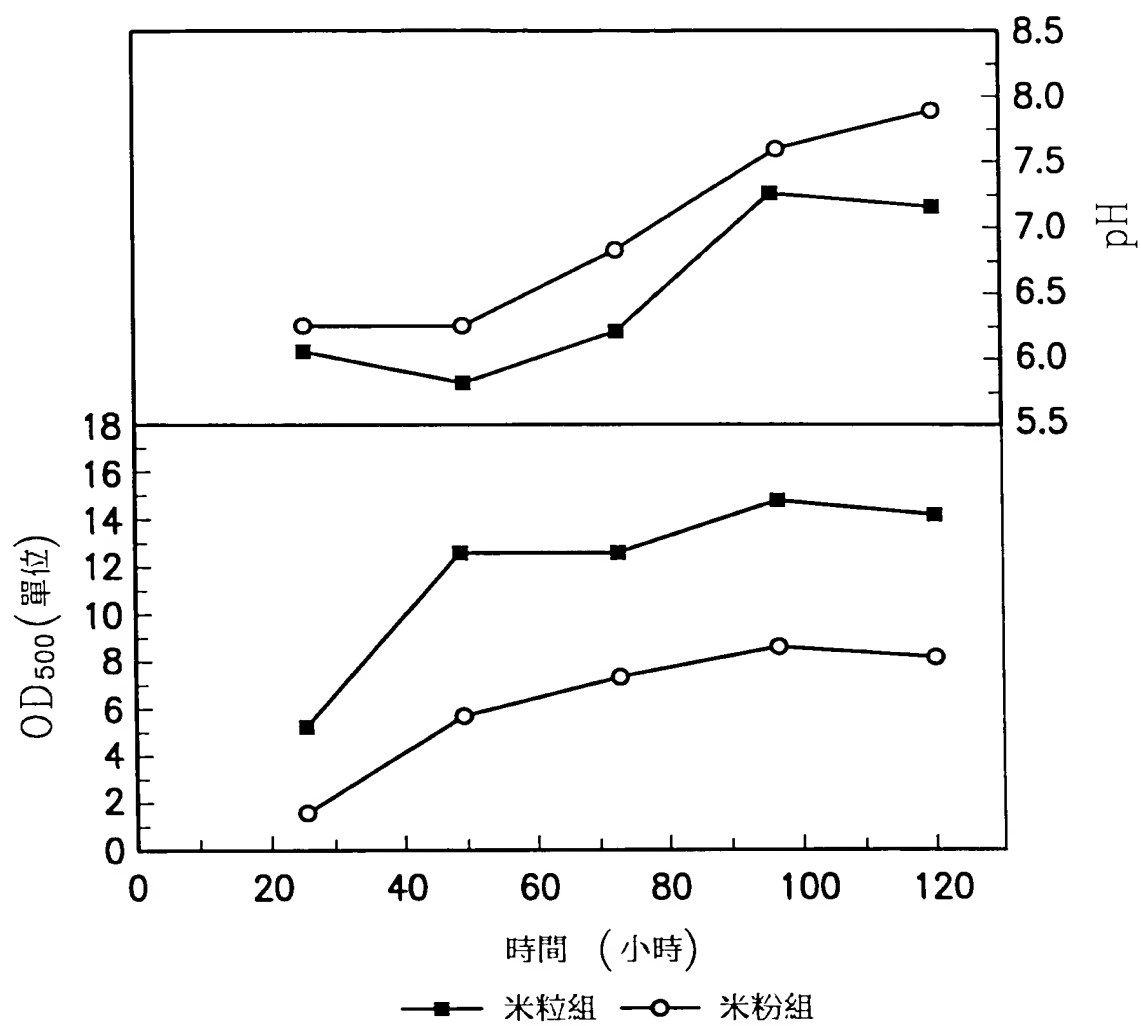
17. 如申請專利範圍第13項所述之方法，其中該醱酵槽是以通氣為攪拌混合動力之氣動式醱酵槽。

18. 如申請專利範圍第17項所述之方法，其中該氣動式醱酵槽為具有網狀導流管之氣舉式醱酵槽。

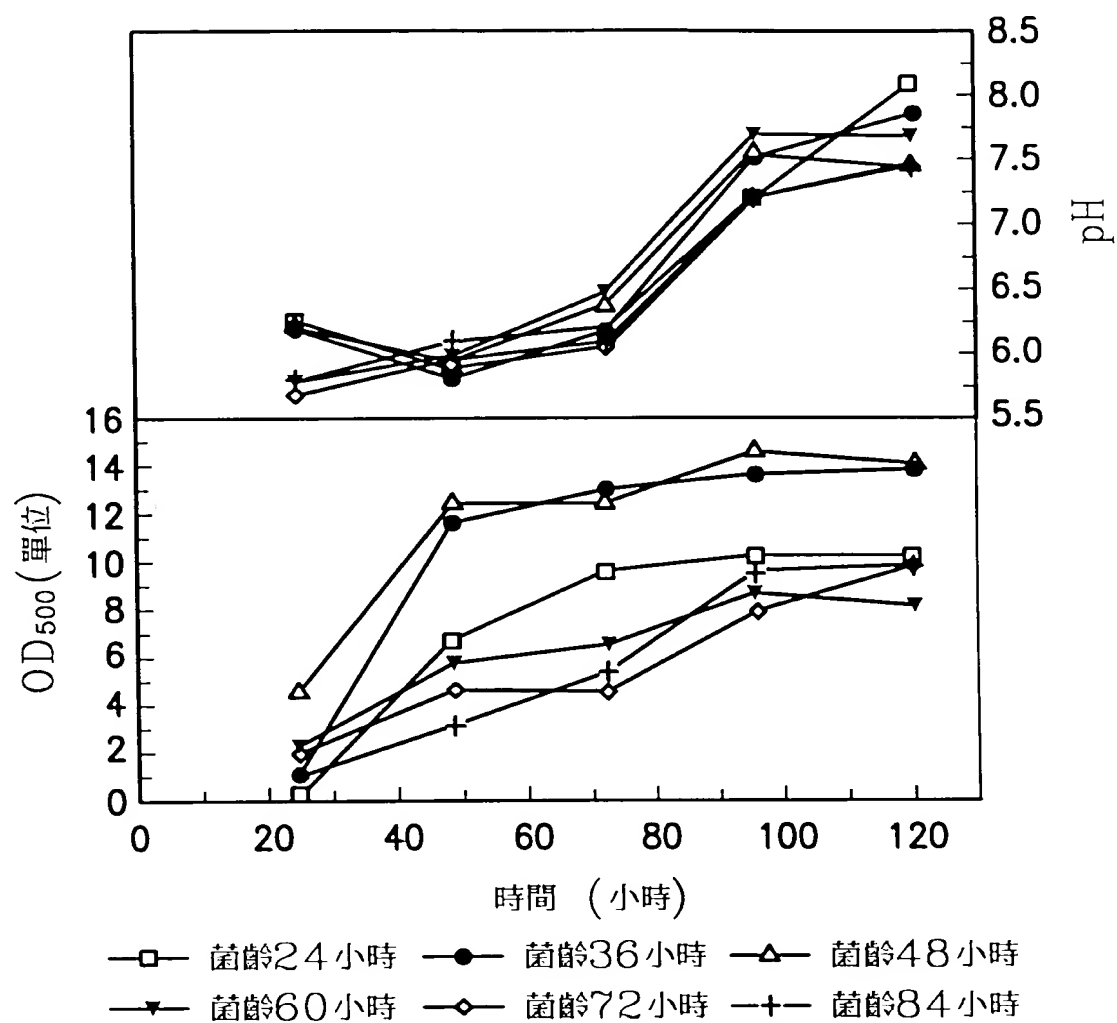
19. 如申請專利範圍第13項所述之方法，更包括以饋料批式生產紅麴代謝物。

20. 如申請專利範圍第19項所述之方法，其中該饋料培養基包括如申請專利範圍第3項所述之穀類以及氮源。

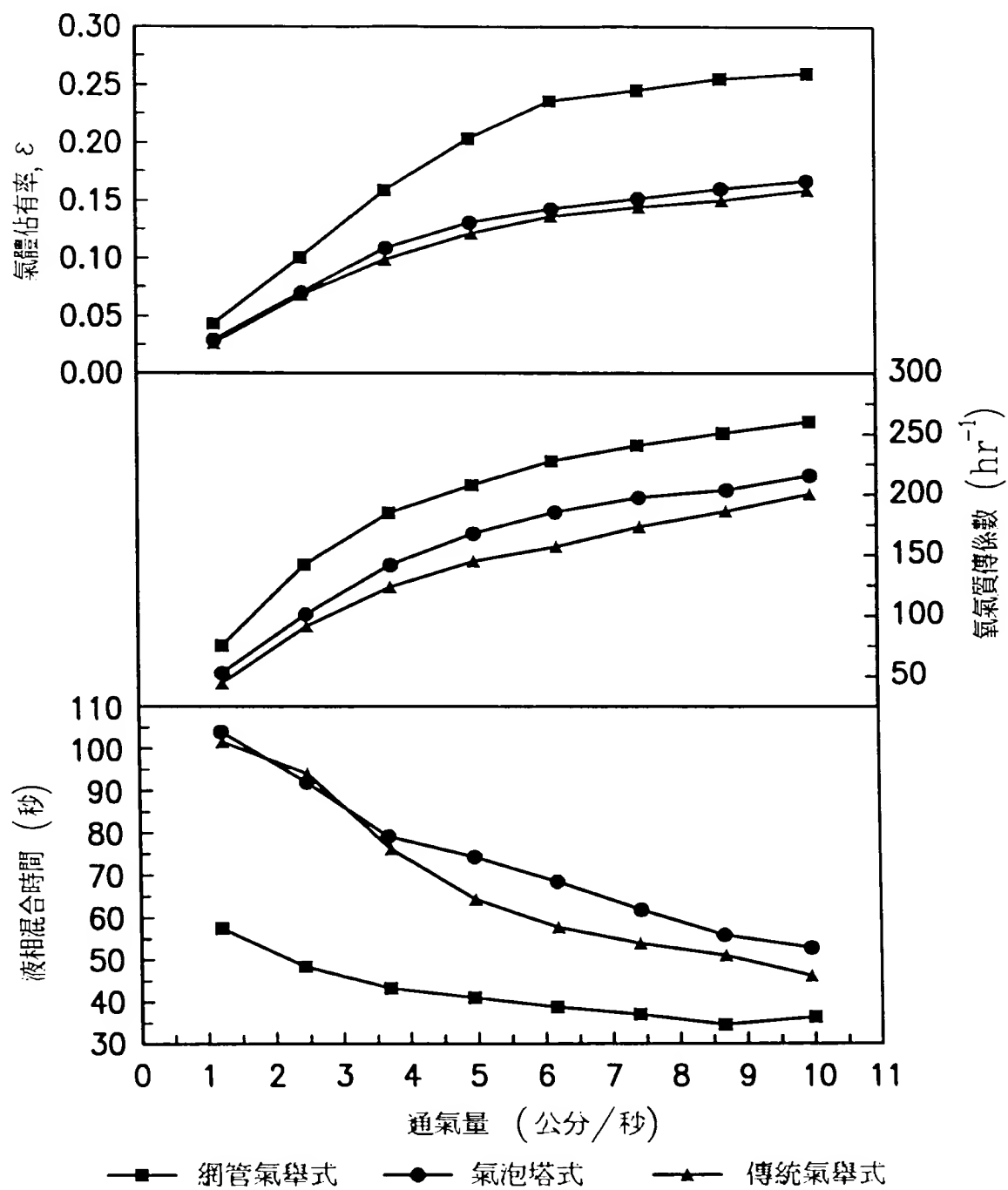




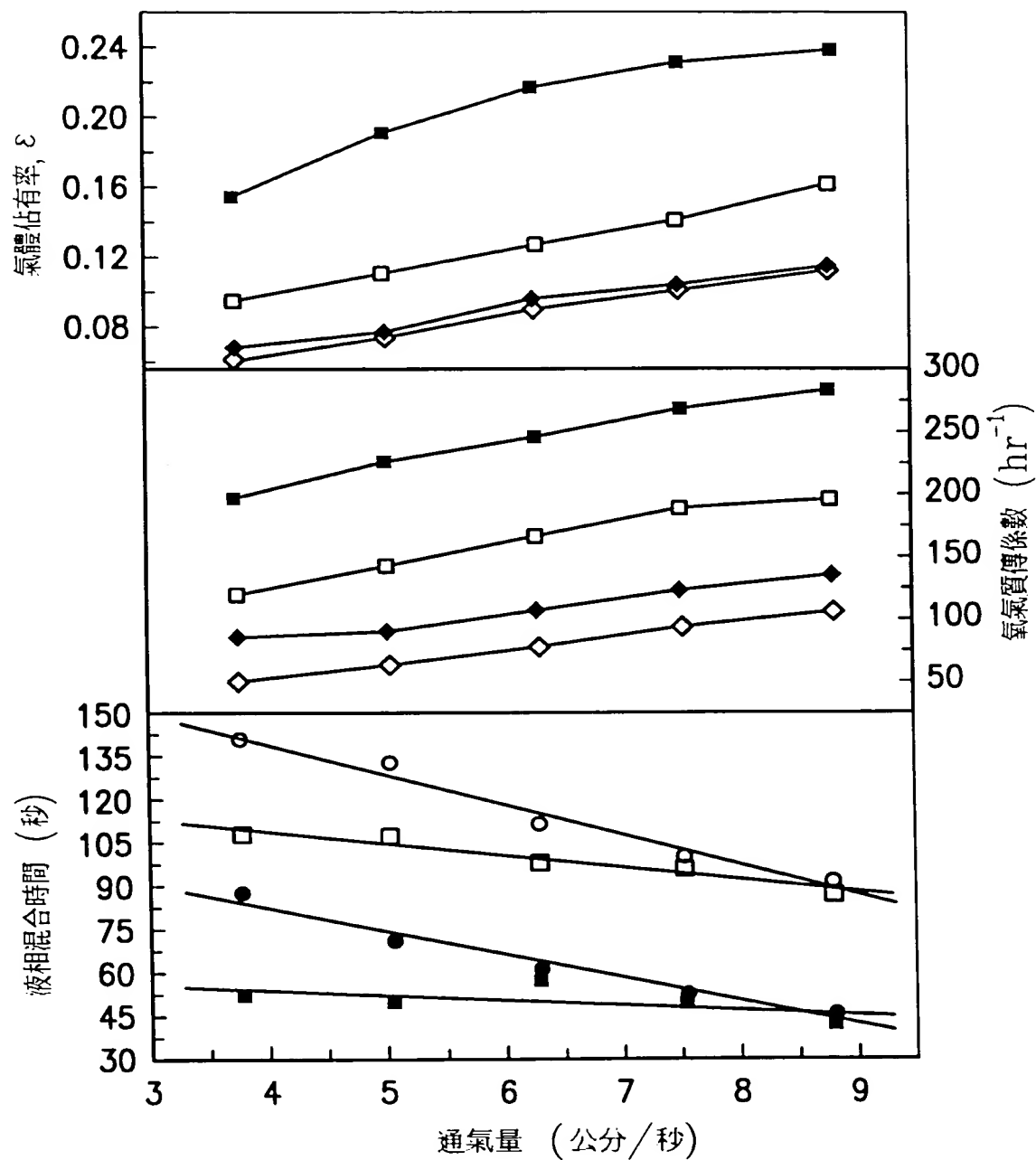
第 1 圖



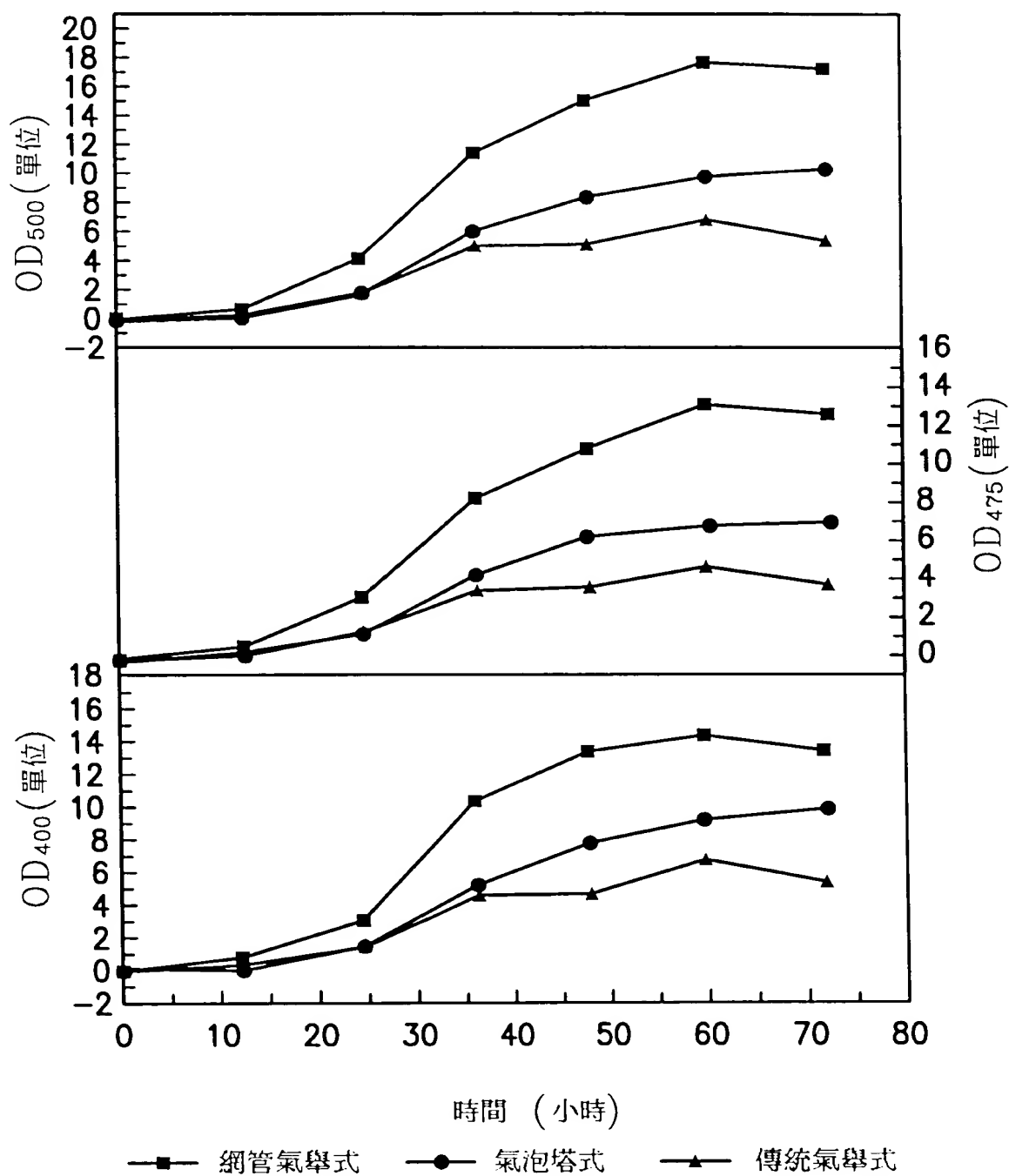
第 2 圖



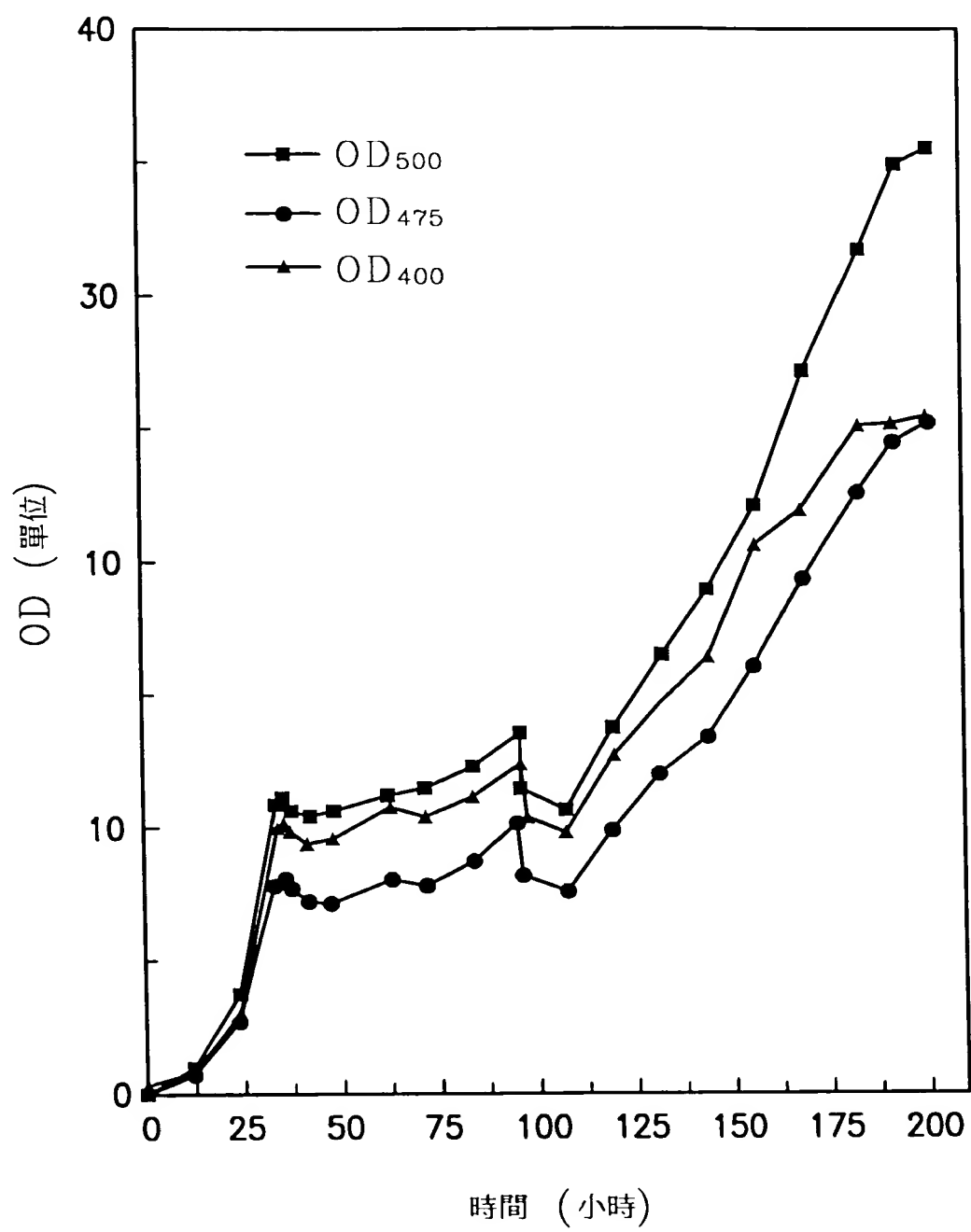
第 3 圖



第 4 圖



第 5 圖



第 6 圖

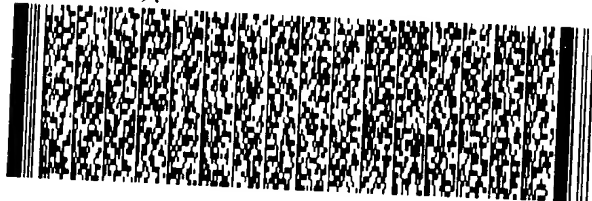
第 1/17 頁



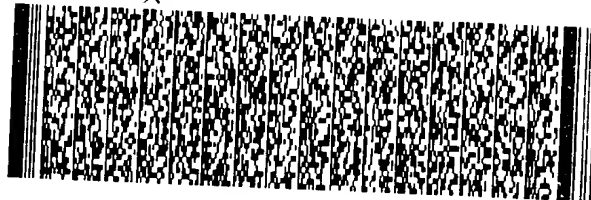
第 2/17 頁



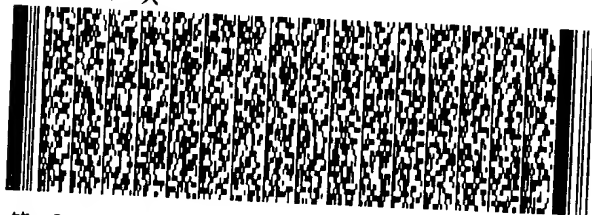
第 4/17 頁



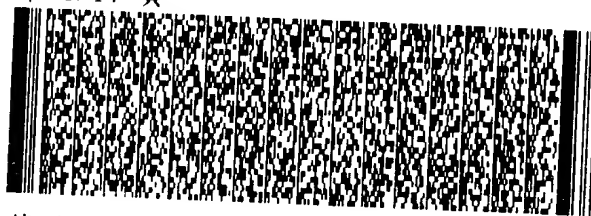
第 4/17 頁



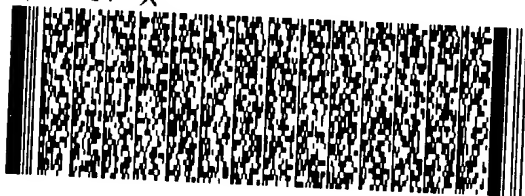
第 5/17 頁



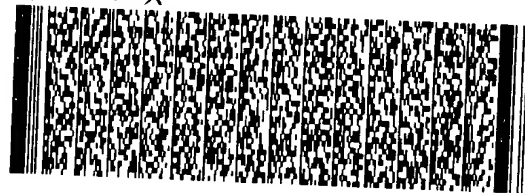
第 5/17 頁



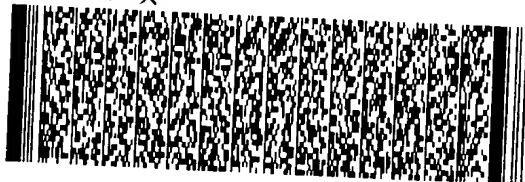
第 6/17 頁



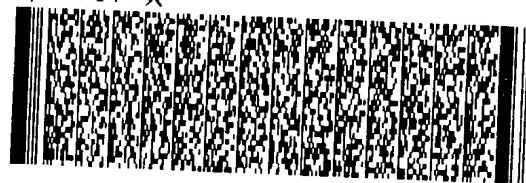
第 6/17 頁



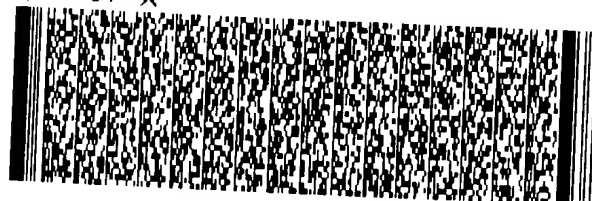
第 7/17 頁



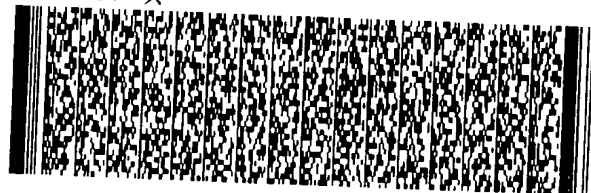
第 7/17 頁



第 8/17 頁



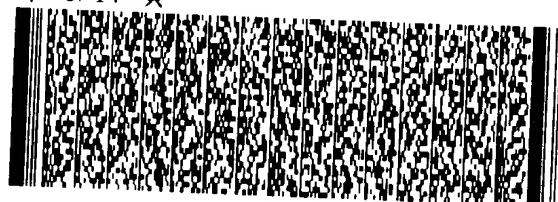
第 8/17 頁



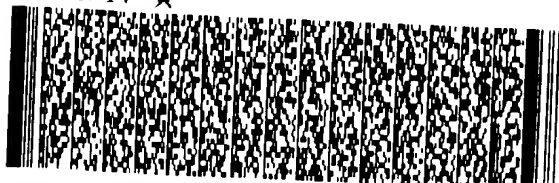
第 9/17 頁



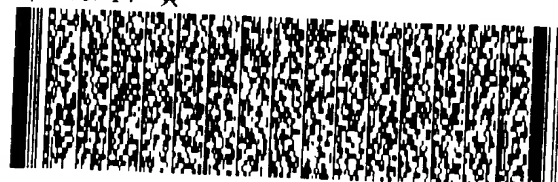
第 9/17 頁



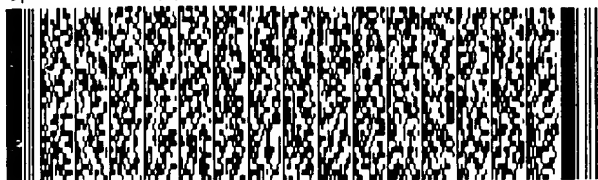
第 10/17 頁



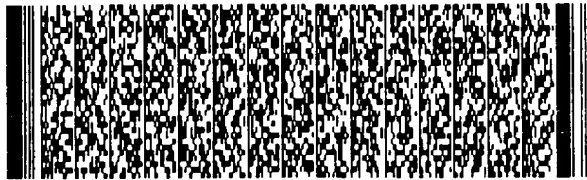
第 10/17 頁



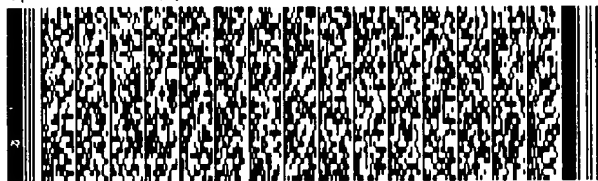
第 11/17 頁



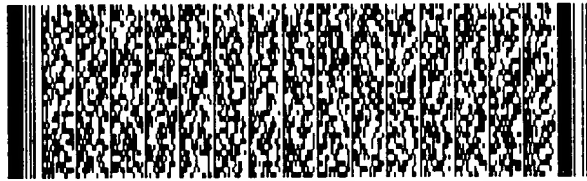
第 11/17 頁



第 12/17 頁



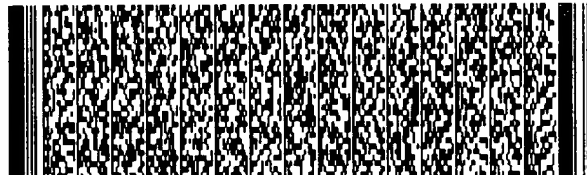
第 12/17 頁



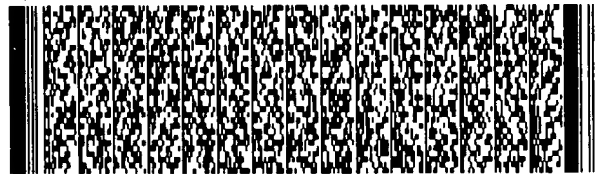
第 13/17 頁



第 13/17 頁



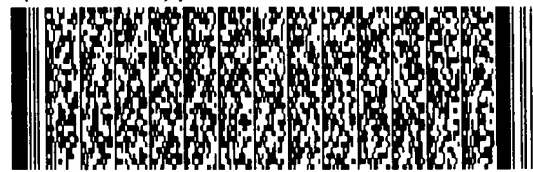
第 14/17 頁



第 15/17 頁



第 15/17 頁



第 16/17 頁



第 16/17 頁



第 17/17 頁

